

## イネのMADS-box 遺伝子の構造解析

木村貴志・永田俊文・森 昌樹<sup>1)</sup> (九州農業試験場・<sup>1)</sup> 農業生物資源研究所)

Takashi KIMURA, Toshifumi NAGATA and Masaki MORI :  
Molecular Analysis of the Rice MADS-box Gene

花器官形成関与遺伝子がアラビドプシス, キンギョソウなどからクローニングされ, シークエンス解析された結果, これらの遺伝子には共通する構造が存在することが明らかにされた。本研究ではこの共通配列に着目し, PCR法によるイネの花器官形成関与遺伝子のクローニングを試みた。

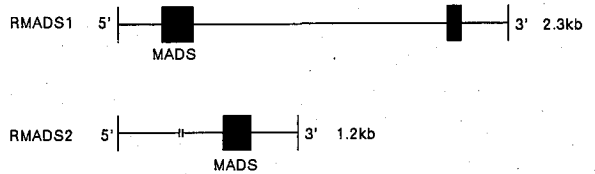
### 1. 材料及び方法

イネのゲノミックDNAの抽出はCTAB法<sup>1)</sup>に従った。サザン及びブランクハイブリダイゼーションは従来法<sup>2)</sup>を用いて行った。DNAプライマーは, ABI社の391 DNA Synthesizerで作製し, PCR反応はGeneAmp PCR system 9600 (93°C=30秒, 36°C=30秒, 72°C=1分, cycle=40)で行った。PCR産物のクローニングにはSureclone Ligation Kit (Pharmacia) を用いた。ゲノミックライブラリーの作成にはλZAPII (Stratagen) ベクター及びGigapack Gold (Stratagene) パッケージングキットを用いた。シークエンス解析はダイデオキシ法を用いて蛍光DNAシークエンサー (373A, ABI) で決定した。

### 2. 結果及び考察

アラビドプシスなどよりクローン化されている花器官形成関与遺伝子AGAMOUS<sup>3)</sup>にはMADS-boxとよばれる保存性の高い配列が存在する。この配列を増幅するプライマーを作製し, イネのゲノムDNAを鋳型にしてPCR反応を行い, 増幅したDNA断片をクローニングして塩基配列を決定した。その結果3種類のMADS-boxがクローニングされたことが明らかになった。アラビドプシスのAGAMOUSのMADS-boxとの相同性は, アミノ酸レベルでそれぞれ96, 93, 91%であった。サザン解析を行ったところこれらのMADS-boxはそれぞれゲノム上に1コピーずつ存在していることが明らかになった。これらをプローブに用いてゲノミックライブラリーのスクリーニングを行い, 得られた5種類のクローンのうち2種類 (RMADS1, RMADS2) の塩基配列を決定した。第1図に示すようにRMADS1には2つ, RMADS2には1つのエクソンが含まれると類推された。RMADS1のMADS-boxはプローブに用いたクローンの1つと同じであったため最終的に4つのMADS-boxがクローニングされたことが明らかとなった (第2図)。またRMADS1の第2エクソンもAGAMOUSと相同性を示した (データ省略)。今回の実験で複数のMADS-boxが見つかり, イネにおいてもアラビドプシスと同様に花

器官形成に関与するAGAMOUSファミリーが存在する可能性が示唆された。



第1図 RMADS1とRMADS2の構造  
推測されるエクソンを黒のボックスで表す。

AG (アラビドプシス)	GRGKIEIKRIENTTNRQVTFCKRRNGLLKA
RMADS1	---R-----S-----
RMADS2	V--RT-L----P-S----S-----
clone 5	-----PS-----
clone 19	-----PS-----

AG (アラビドプシス)	YELSVLCDAEVALIVFSSRGRLYEY
RMADS1	-----
RMADS2	F-----P-----F
clone 5	-D-----N-----V----
clone 19	-D-----V----

第2図 イネゲノムより単離した4種のMADS-boxのアミノ酸配列の比較  
AGと同じアミノ酸配列を「-」で表す。

### 引用文献

- 1) 渡辺 格・杉浦昌弘: 「クローニングとシークエンス」 (植物バイオテクノロジー実験マニュアル), 344p, 1988.
- 2) Sambrook, Jetal, Molecular cloning : A laboratory manual, Cold Spring harbor laboratory Press. Cold Spring Harbor, NY. 1988.
- 3) Martin F.Yanofsky. et al. NATURE. 346, 35-39, 1990.